

академик Н. П. ДУБИНИН, Г. И. ГОРОШКИНА,
Г. Д. ЗАСУХИНА, В. П. МАРИНИНА

**ФОРМИРОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ РНК ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА, В КЛЕТКАХ
С АКТИВНОЙ И ДЕФЕКТНОЙ СИСТЕМАМИ РЕПАРАЦИИ**

В последнее время большое число исследований посвящено влиянию вирусов на хромосомный аппарат клетки. Имеются два больших класса вирусов: ДНК- и РНК-содержащие вирусы млекопитающих. Вирусы обладают мутагенными свойствами и могут индуцировать хромосомные и митотические аномалии аналогично некоторым химическим мутагенным агентам (1-3). Причем природа влияния вирусов на клетки различна — одни вирусы угнетают, а другие стимулируют митотическую активность (4). Относительно вирусиндужированных хромосомных аномалий уста-

Таблица 1

Митотический индекс в п.х. после воздействия РНК вируса полиомиелита, РНК + РНКазы, РНКазы

Вариант опыта	Вид воздействия	Время фиксации, час.	Число собранных клеток	Число делящихся клеток	Митотический индекс, % (среднее)
1	РНК	6	1000	19	1,6
		24		14	
	РНК + РНКаза	6	1000	61	6,2
		24		63	
	РНКаза	6	1000	59	5,9
	Контроль	24		60	
		6	1000	90	8,5
		24		81	
	РНК	6	1000	20	1,7
		24		15	
2	РНК + РНКаза	6	1000	71	7,05
		24		70	
	РНКаза	6	1000	69	6,9
	Контроль	24		70	
		6	1000	89	8,8
		24		87	
	РНК	6	1000	21	1,7
		24		14	
	РНК + РНКаза	6	1000	71	7,2
		24		73	
3	РНКаза	6	1000	68	7,1
	Контроль	24		75	
		6	1000	95	9,6
		24		97	
Суммарный результат					
РНК	6	—	—	2	
	24	—	—	1,4	
РНК + РНКаза	6	—	—	6,6	
	24	—	—	6,8	
РНКаза	6	—	—	6,7	
Контроль	24	—	—	6,9	
	—	—	—	8,9	

Таблица 2

Хромосомные аберрации в культуре клеток п.х. при воздействии РНК вируса полиомиелита, РНК + РНКазы, РНКазы

Вид воздействия	Число собранных клеток	Время фиксации, час.	Число клеток с повреждениями	Число аберраций	Аберрации, %
РНК вируса полиомиелита	350	6	128	145	42±1,10
	300	24	47	53	17±2,33
РНК + РНКаза	300	6	45	55	18±2,44
	300	24	39	47	15±2,18
РНКаза	350	6	30	40	12±1,89
	300	24	30	31	10±1,77
Контроль	500	6	15	15	3±0,77
	500	24	20	20	4±0,89

новлено 3 основных типа повреждений: единичные хромосомные разрывы, распыление хромосом и аномальность веретена (5).

В данной работе поставлена задача — изучить характер аберраций хромосом и их судьбу после воздействия РНК вируса полиомиелита в первичных (п.х.) и перевиваемых (п.с.х.) клетках сирийского хомячка. Ранее нами был дан сравнительный анализ активности систем репарации в этих клетках (6). Было установлено, что п.х. обладает активной системой репарации; п.с.х. дефектна по этой системе. Вирус полиомиелита, выбранный нами в качестве модели исследования, не репродуцируется в клетках п.х. и п.с.х., однако при инокуляции этих клеток инфекционной вирусной РНК наблюдали репродукцию вируса на протяжении одного вирусного цикла. Таким образом, воздействием РНК вируса полиомиелита на нечувствительные клетки достигался эффект, аналогичный эффекту некоторых физических и химических мутагенов с определенным периодом воздействия на клетки, и исследовалось последействие этого фактора. Клетки обеих культур инокулировали инфекционной РНК вируса полиомиелита (штамм L Sc2ab, вирус полиомиелита I типа), который был выделен методом фенольной дегротенизации. Титр вирусной РНК в чувствительных клетках почек зеленой мартышки (lg б.е./мл) составлял в среднем 3,3—4,0. В качестве контроля были использованы следующие клетки: 1) клетки, инокулированные РНК вируса полиомиелита + РНКаза (титры вируса были <1,0); 2) клетки, инокулированные препаратами РНКазы; 3) клетки, не инфицированные вирусной РНК.

Клетки фиксировали через 6 и 24 час. после обработки. Фиксацию проводили смесью метилового спирта и ледяной уксусной кислоты в отношении 3:1, препараты окрашивали 2% ацетоорсенином. Цитогенетический анализ показал определенные различия в клетках с активной и неактивной системой репарации после воздействия РНК вируса полиомиелита.

Митотический индекс в клетках п.с.х. к 24 час. инкубации оставался на уровне контроля или был несколько выше: 18% в контроле, 18—25% в опыте. Число аберраций к 24 час. инкубации возрастает от 2% в контроле до 38—40%. Причем высокий уровень хромосомных аберраций наблюдали как через 6 час., так и через 24 часа инкубации (рис. 1).

Как видно из рис. 2 и табл. 1, в клетках п.х. к 24 час. инкубации митотическая активность падает от 8—9% в контроле до 1,5% соответственно при действии РНК вируса полиомиелита. Инокуляция клеток смесью РНК вируса с РНКазой и только РНКазой приводит к незначительному уменьшению митотической активности по сравнению с контролем до 6,6—6,8%. Анализ хромосомных аберраций в клетках п.х. показал, что к 6 час. инкубации после инокуляции клеток РНК вируса, количество аберраций возрастает от 2% в контроле до 42%, а к 24 час. инкубации количество аберраций составляло 18%. При инокуляции клеток совместно РНК и РНКазой к 6 час. инкубации число аберраций составляло 18%; к

24 час. 15 %. При действии только одной РНКазой это соотношение было к 6 час. 12%; к 24 час. 10% aberrаций (рис. 2, табл. 2). Спектр хромосомных aberrаций менялся следующим образом: к 6 час. инкубации хроматидные делеции составляли 25%, концевые парные делеции 13%, хроматидные дисцентрики 1%, хромосомные дисцентрики 2%, микрофрагменты 3%. К 24 час. инкубации уменьшение количества aberrаций наблюдалось за счет падения числа хроматидных делеций и концевых парных делеций — первые составляли 5%; вторые 8–10%. Количество других видов aberrаций существенно не изменилось. Надо отметить, что вирусная инфекция в обеих культурах вызывала расхождение хроматид по центромере. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что испытанные нами клетки п.х. и п.с.х по-разному реагируют на действие не только облучения и химических мутагенов, как нами было показано ранее (7), но и на биологические факторы.

По характеру ответа на данное воздействие нами обнаружена определенная аналогия между у.-ф. облучением и действием РНК вируса полиомиелита, которая заключается в существенном уменьшении числа aberrаций к концу клеточного цикла в клетках п.х. с активной системой reparаций и стабильным их числом в клетках п.с.х. с дефектной системой. Таким образом, показано, что реакция клеток п.х. — п.с.х. на воздействие факторов вирусной природы и их ответ зависит от наличия или отсутствия в этих клетках активных reparационных механизмов.

Институт общей генетики Академии наук СССР
Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
23 IV 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. В. Вацкова, В. М. Жданов, Вопр. вирусол., № 1, 91 (1966). ² И. Ф. Барзинский, И. В. Дементьев, В. В. Вацкова, Вопр. вирусол., № 1, 131 (1968). ³ Н. Ф. Stich, O. S. Yohn, Progr. Med. Virol., № 12, 78 (1970). ⁴ М. Н. Медведева, Г. М. Водяйко, Д. Б. Голубев, Цитология, 14, 6, 753 (1972). ⁵ Г. Р. Михайлова, Генетика, 3, № 7, 129 (1967). ⁶ Н. П. Дубинин, Л. Л. Матусевич и др., ДАН, 203, № 3, 693 (1972). ⁷ Н. П. Дубинин, Г. И. Горошкина и др., ДАН, 210, № 2 (1973).

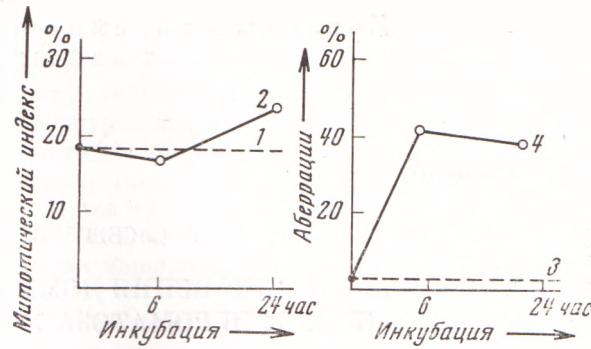


Рис. 1. Влияние РНК вируса полиомиелита на митотический индекс и число хромосомных aberrаций культуры клеток п.с.х. 1 — контроль; 2 — РНК вируса полиомиелита; 3 — контроль; 4 — РНК вируса полиомиелита

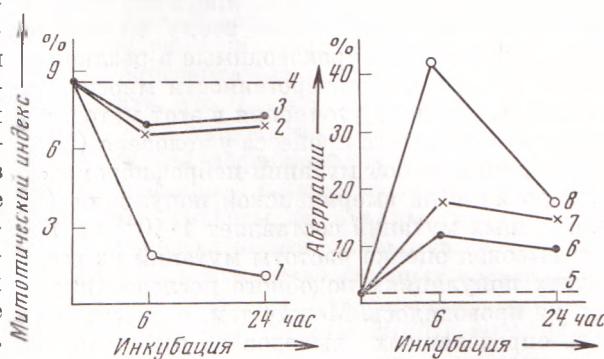


Рис. 2. Величина митотического индекса и количество хромосомных aberrаций в п.х. после обработки РНК вируса полиомиелита, РНК вируса+РНКаза, РНКаза. 1 — РНК вируса полиомиелита; 2 — РНК+РНКаза; 3 — РНКаза; 4, 5 — контроль; 6 — РНКаза; 7 — РНК+РНКаза; 8 — РНК вируса полиомиелита